体外診断用医薬品　　　　　　　2012 年 12 月改訂（新様式第 1 版）
製品番号 6607073　　　　　　　承認番号 21200AMY00113000

クラスⅡ免疫検査用シリーズ
白血球キット／NK 細胞キット／B 細胞キット／T 細胞キット

サイトスタット tetraCHROME シリーズ
CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

全般的な注意

1.本品は、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないでください。
2.診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3.添付文書等に記載した内容以外の方法で使用した場合には、保証しません。
4.ご使用にあたっては、測定装置の取扱説明書をよく読んでから使用してください。

形状・構造等（キットの構成）

【構成試薬】

モノクローナル抗体試薬（単一試薬）
＜成分＞
① 抗ヒト CD45 マウスモノクローナル抗体（FITC 結合）
② 抗ヒト CD56 マウスモノクローナル抗体（RD1 結合）
③ 抗ヒト CD19 マウスモノクローナル抗体（ECD 結合）
④ 抗ヒト CD3 マウスモノクローナル抗体（PC5 結合）

FITC（フルオレセインイソチオシアネート）
RD1 （フィコエリスリン） ＝PE
ECD （フィコエリスリンテキサスレッド）
PC5 （フィコエリスリンサイアニンファイブ）

【対象抗原】

CD45（分子量 180/190/210/220kD）
CD45 抗体は、白血球共通抗原（LCA）として知られている、CD45 ファミリー汎白血球抗原を認識します。CD45 抗原は、赤血球とその前駆細胞を除く、いずれの白血球にも発現しています。この抗原は、非造血組織の細胞には発現していません。

CD3（分子量 20kD）
CD3 抗体は、TCR と複合体を形成している 5 つの CD3 抗原分子鎖のうちのε鎖を認識しています。この抗原は、系統特異的な“Pan-T 細胞”表面抗原で、成熟胸腺細胞と末梢血の休止期及び活性化 T 細胞（インデューサ及びサプレッサ/細胞障害の両方のサブセットを含む）に発現しています。

CD19（分子量 95kD）
CD19 抗原は、分化段階初期の B 細胞を含むすべての B 細胞に発現しており、B 前駆細胞から分化段階の終末である形質細胞で消失するまで発現が継続します。濾胞樹状細胞や骨髄単球系前駆細胞にも発現が認められることがありますが、T 細胞、単球、顆粒球には検出されません。in vitro での研究で、CD19 は TAPA-1、CD21、CD81、Leu13 その他の分子を含む細胞表面シグナル伝達複合体の一部として、B 細胞活性化と増殖の調節に関与していることが示されています。

CD56（分子量 135～220kD）
CD56 抗体は、神経細胞接着分子（NCAM）のアイソフォームを認識します。オルタネートスプライシングと糖鎖付加の違いにより、NCAM の分子量は 135～220kD の範囲になりますが、造血系細胞では、NK 活性を示すリンパ球亜集団のみに 104kD のアイソフォームが発現しています。末梢血中で、TCR を介さずに細胞障害性を示すことのできるリンパ球のすべてが CD56 を発現しています。この亜集団には、NK 細胞（CD3 陰性/CD56 陽性）と少数の T細胞サブセット（CD3 陽性/CD56 陽性）の両方が含まれています。CD56 は、その他の T 及び B リンパ球、単球、顆粒球、及び赤血球には発現していません。

【クローン】

CD45: B3821F4A
ヒト CD45 cDNA トランスフェクタントで免疫した BALB/c マウスの脾臓細胞と NS-1 マウスミエローマ細胞の融合細胞から分離

CD3: UCHT1
セザリー病患者から得られた末梢血リンパ球及び胸腺細胞で免疫した BALB/c マウスの脾臓細胞と NS-1 マウスミエローマ細胞の融合細胞から分離

CD19: J4.119 （新名： J3-119）
SKLY18 リンパ腫細胞株で免疫した BALB/cJ マウスの脾臓細胞と NS-1 マウスミエローマ細胞の融合細胞から分離

CD56: N901（NKH1）
ヒト慢性骨髄性白血病細胞で免疫した BALB/cJ マウスの脾臓細胞と NS-1 マウスミエローマ細胞の融合細胞から分離

【Ig 構造】

マウス IgG2b-H 鎖及びκ-L 鎖（CD45）
マウス IgG1-H 鎖及びκ-L 鎖（CD3、CD19、CD56）

【細胞毒性】

補体依存性（CD45）
なし（CD3、CD19、CD56）

【原料及び精製法】

マウス腹水よりアフィニティークロマトグラフィーで精製（CD45）
融合細胞の培養上清よりアフィニティークロマトグラフィーで精製（CD3、CD19、CD56）

【標識】

FITC ： 励起波長 468～509nm、蛍光波長 504～541nm
RD1 ： 励起波長 486～580nm、蛍光波長 568～590nm
ECD ： 励起波長 486～580nm、蛍光波長 610～635nm
PC5 ： 励起波長 486～580nm、蛍光波長 660～680nm

【抗体以外の各種成分と濃度 】

1 バイアル（0.5mL）中

BSA	:	0.2%
リン酸カリウム	:	0.01M
NaCl	:	0.15M
NaN_3	:	0.1%
スタビライザー		

使用目的

リンパ球細胞表面抗原の分析及びT細胞、B 細胞、NK 細胞の測定

測定原理

測定方法は、フローサイトメトリーを用いた 4 カラー直接免疫蛍光法です。すなわち、サイトスタット tetraCHROME 試薬をリンパ球表面の CD45 抗原及び CD3 抗原と CD56、CD19 抗原に同時に反応させ、細胞に波長 488nm の励起光を照射して緑色蛍光（FITC）、深赤色蛍光（PC5）及びオレンジ色蛍光（RD1）、赤色蛍光（ECD）を発光させ、それぞれの蛍光を光電子増倍管で増幅し、その電気信号をコンピュータで解析、表示させることにより各抗体陽性細胞の計測を行います。

測定には、EPICS XL/XL-MCL™または Cytomics FC500（以下、FC500）、Navios ハイエンドクリニカルフローサイトメーター（以下、Navios）等の 488nm 励起で4カラー測定が可能なフローサイトメーターを使用します。蛍光フィルタは、FITC（525nm）、PE（575nm）、ECD（615nm）、PC5（675nm）の4カラー測定が可能な設定にしてください。FC500 および Navios で測定する場合は、tetraCHROME 測定用の光学フィルタ設定でご使用ください。

使用するフローサイトメーターは、あらかじめ蛍光のコンペンセーション（FITC、RD1、ECD、PC5 相互の蛍光波長オーバーラップ分の補正）が適切に設定されている必要があります。コンペンセーションの確認と調整は測定前に必ず行い、測定中もレーザ光軸の再調整や PMT ハイボルテージの再設定等を行った際には修正・確認を行う必要があります。tetraONE システム、tetraCXP システム、または Navios tetra システムでは、PMT ハイボルテージと蛍光コンペンセーションはアプリケーションに最適な状態に自動的に調整されます。

前方散乱光（FS）と側方（90°方向）散乱光（SS）によるサイトグラムに加えて、CD45 蛍光と側方散乱光のサイトグラムでもリンパ球領域にゲートを設定することにより赤血球の妨害なしに蛍光陽性リンパ球の測定ができます。tetraONE システムまたは tetraCXP システムでは、自動的にリンパ球をゲーティングし、さらに陰性コントロール試薬なしで、自動的に陽性領域のカーソル設定を行います。

操作上の注意

1. サイトスタット tetraCHROME 試薬はフローサイトメトリー専用試薬です。蛍光顕微鏡には使用できません。
2. サイトスタット tetraCHROME 試薬は全血検体用に調製されています。
3. サイトスタット tetraCHROME 試薬の測定には、488nm 励起で 4 カラー（525nm、575nm、615nm、670nm）の蛍光測定が可能なフローサイトメーター（EPICS XL/XL-MCL、FC500 または Navios 等）が必要です。
4. フローサイトメーターのレーザ光軸の調整不良や蛍光感度とコンペンセーションの調整不良、不適切なゲート設定などにより、誤った結果が得られる場合があります。
5. 検体は、採血後は室温で保存し、6 時間以内に染色してください。
6. 静脈血検体の場合、細胞のバイアビリティ（生存率）は 90%以上が理想的ですが、異常検体ではこれを下回ることがあります。
7. 溶血不良となるおそれがあるため、検体を試験管に分注する際は試験管の口や壁面に検体を付けないよう注意してください。付着した血液は、綿棒等で除去してください。
8. 有核赤血球、血漿タンパク濃度異常、ヘモグロビン合成異常が見られる検体では、赤血球の溶血が不完全となることがあります。
9. 溶血時間が長すぎると白血球にもダメージが及ぶことがあります。
10. 調製済みのサンプルは、できるだけ速やかに測定してください。

11. 試薬を凍結したり、長時間光にさらさないでください。すべての試薬は使用する前に室温(20～25℃)に戻してください。
12. 試薬の外観に変化が見られたり、コントロール検体の測定値に大きな変化がある場合は、試薬の劣化が考えられるので使用しないでください。試薬の正常な外観は、ピンク色がかった透明な液体です。
13. tetraONE システム、tetraCXP システムまたは Navios tetra システムを使用せず、マニュアルで測定する場合は、次の点に注意してください。
(1) 散乱光サイトグラムにおいて、明瞭な 3 分画(リンパ球、単球、顆粒球の各領域)が得られるようにノイズディスクリミネータと散乱光の感度を微調整します。
(2) CD45 蛍光と側方散乱光のサイトグラムにおいて、明瞭な 3 分画(リンパ球、単球、顆粒球の各領域)が得られるように CD45(FITC)蛍光の感度を調整します。蛍光感度を調整した後は、必ずコンペンセーションの確認と再調整を行ってください。リンパ球(CD45 が強蛍光で側方散乱光が低い)領域に解析ゲートリージョンを設定します。
(3) リンパ球領域ゲートを満たすイベントについて、RD1 蛍光(Log スケール)と PC5 蛍光(Log スケール)の 2 パラメータ蛍光ヒストグラム、及び ECD 蛍光(Log スケール)と PC5 蛍光(Log スケール)の 2 パラメータ蛍光ヒストグラム、PC5 蛍光(CD3、Log スケール)の 1 パラメータ蛍光ヒストグラムを取得します。

用法・用量(操作方法)

注: tetraONE システムガイド(製品番号 4237293)、tetraCXP システムガイド(製品番号 177416)、または Navios tetra システムガイド(弊社までお問合せください)を併せて参照してください。

【試薬の調製】
サイトスタット tetraCHROME は、そのまま使用します(10μL／テスト)。

【その他必要な試薬】

1. 溶血試薬
   イムノプレップ試薬(IMMUNOPREP; TQ-Prep 専用溶血・固定試薬)
   製品番号: 7546999　容量: 300 テスト
   イムノプレップ試薬は以下の 3 つの試薬で構成されています。
   ①イムノプレップ A(溶血試薬)
   ②イムノプレップ B(反応停止試薬)
   ③イムノプレップ C(固定試薬)
2. その他の試薬
   tetraONE システムで測定を行う際に必要な試薬等については、tetraONE システムガイドを参照してください。
   tetraCXP システムで測定を行う際に必要な試薬等については、tetraCXP システムガイドを参照してください。
   Navios tetra システムで測定を行う際に必要な試薬等については、Navios tetra システムガイドを参照してください。

【検体の採取と白血球数の調整】

検体には、抗凝固剤に EDTA を用いて採血した末梢血を使用します。血液は、試験管 1 本につき 100μL使用します。

染色に最適な白血球数の範囲は 3～10×10^3 個/mm^3 です。もし白血球数が 10×10^3 個/mm^3 を超える場合は検体を希釈します。また、3×10^3 個/mm^3 より少ない場合は遠心濃縮します。TQ-Prep™/イムノプレップ試薬システムを用いて赤血球を溶血する場合には、同一患者の血漿で検体を希釈してください。tetraONE システムまたは tetraCXP システムで自動測定する場合は、COULTER TQ-Prep/イムノプレップ試薬システムをご使用ください。

注)検体は採血後室温(20～25℃)で保存してください。良好な分析結果を得るには、できるだけ採血してから 6 時間以内に操作を開始してください。

【細胞数の調整】

a) 白血球数が多い検体の場合(＞10×10^3 個/mm^3)

白血球数			希釈倍数
10～20	×10^3	:	2 倍
20～30	×10^3	:	3 倍
30～40	×10^3	:	5 倍
40～60	×10^3	:	6 倍
60～100	×10^3	:	10 倍
100～200	×10^3	:	20 倍

b) 白血球数が少ない検体の場合(＜3×10^3 個/mm^3)

バフィーコート法
(1) 検体を 25℃で 500×g、5 分間遠心します。
(2) 白血球の層をピペットで採取します。この際、白血球全部を確実に回収するため赤血球及び血漿も一部回収してください。
(3) 数回ピペッティングして、十分に懸濁させます。
(4) ユニセル DxH800 等のヘマトロジーアナライザや血球計算板を用いて細胞濃度を測定します。
(5) 同一患者の血漿で細胞濃度を 10×10^3 個/mm^3 に調整します。

【操作方法】

1. TQ-Prep/イムノプレップ試薬システムを用いる場合(Q-Prep 法)
   イムノプレップ試薬(IMMUNOPREP)は、TQ-Prep™ 用にコールター社が開発した溶血試薬キットで、以下の試薬で構成されています。
   ①イムノプレップ A(溶血試薬)
   ②イムノプレップ B(反応停止試薬)
   ③イムノプレップ C(固定試薬)
   1) 12mmφ×75mm のポリプロピレン(またはシリコン処理ガラス)試験管にサイトスタット tetraCHROME 試薬 10μL を分注します。
   2) 試験管に全血を 100μL ずつ分注します。
   3) よく攪拌した後、室温で 10～12 分間反応させます。
   4) TQ-Prep で溶血・固定処理します。
   5) 調製したサンプルは、調製後 2 時間まで室温で保存できます。2 時間を超えるときは、2～8℃で遮光保存し、調製後 24 時間以内に測定してください。
2. イムノプレップ試薬(IMMUNOPREP)以外の溶血試薬を用いる場合、溶血試薬の取扱説明書に従ってサンプル調製を行ってください。
   tetraONE システム、tetraCXP システムまたは Navios tetra システムで自動測定する場合には、TQ-Prep/イムノプレップ試薬システムをご使用ください。

【絶対数の計算】

各々の陽性細胞の絶対数は、Flow-Count(絶対数測定試薬、製品番号 7547053)を併用して簡便かつ高精度に測定できます。また、絶対数は各サブセットの陽性率と血球数算定(ユニセル DxH800 等による)の結果から次式により計算することもできます。

絶対数(個/mm^3)＝ 総白血球数(個/mm^3)×リンパ球%×陽性率%／10^4

tetraONE システム、tetraCXP システムまたは Navios tetra システムでは、オプションとして、Flow-Count を併用して各サブセットの絶対数を自動計算できます。

測定結果の判定方法

注:tetraONE システムガイド、tetraCXP システムガイド、Navios tetra システムガイドを併せて参照してください。

【測定条件の確認】

測定条件が正しいかどうかを確認するには、IMMUNO-TROL(精度管理用全血コントロール、製品番号 6607077)を陽性コントロール検体として、検体と同様に染色、測定します。抗体試薬の性能確認には CYTO-TROL(精度管理用コントロール細胞、製品番号 6604248)も使用できます。

Fc レセプタを介した単球、顆粒球に対する非特異結合はリンパ球領域を正しくゲーティングすることで除外できます。リンパ球は、CD45 が強蛍光で、側方散乱光が低い細胞集団です。

末梢血リンパ球は、T 細胞、B 細胞、NK 細胞の 3 者で構成されているため、理想的な測定条件では、同一検体のリンパ球領域での CD3 陽性率(T 細胞)、CD19 陽性率(B 細胞)及び CD3-/CD56+陽性率(NK 細胞)の合計の期待値は 100%になります。陽性率の合計が 100%を大きく下回る場合、リンパ球領域への単球その他の細胞集団の混入によるゲートリージョン内のリンパ球純度の低下が考えられるため、ゲートリージョンを修正した上で陽性率を再解析してください。

【期待値】

自社施設にて、18～84 歳の健常者男女の末梢血をサイトスタット tetraCHROME シリーズの各構成製品で測定して得られた $CD3^+$、$CD19^+$、$CD3^-/CD56^+$それぞれの陽性率及び陽性細胞絶対数は以下のとおりです。各々の陽性率及び絶対数は、Flow-Count 試薬を併用し、tetraONE システムで測定しました。

CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5 (n = 171)

	Min	Max	Mean±1SD
CD3 陽性率(%)	55	94	74.0±7.5
CD19 陽性率(%)	1	37	13.6±5.3
$CD3^-/56^+$陽性率(%)	2	26	9.3±4.7
CD3 絶対数(個 mm^3)	572	2,909	1346±469
CD19 絶対数(個 mm^3)	14	816	253±143
$CD3^-/CD56^+$絶対数(個 mm^3)	13	441	164±90

これらは期待値の一例です。期待値は施設ごとに設定してください。

【測定結果の判定に関わる注意事項】

1. CD3 は最も特異性の高い T 細胞マーカーですが、CD3 陽性の T 細胞は機能的に成熟した T 細胞であるため、胸腺細胞など未熟な T 細胞の検出には CD2、CD5 など他の T 細胞マーカーを併用してください。
2. 臓器移植等の患者で、治療目的で CD3 抗体の投与を受けている場合は、CD3 陽性率(T 細胞)の測定に影響することがあるので、CD2、CD5 など他の T 細胞マーカーを併用してください。
3. CD19 はすべての B 細胞に陽性となります。T 細胞は CD19 陰性です。
4. CD56 陽性の細胞集団には、すべての NK 細胞(CD3 陰性)及び少数の T 細胞(CD3 陽性)が含まれます。CD56 陽性 T 細胞も NK 細胞と同様の機能を持っていることが知られています。
5. 顆粒球及び赤血球は、CD3、CD19、CD56 のいずれも陰性です。
6. 白血球はすべて CD45 陽性ですが、その蛍光強度はリンパ球＞単球≫顆粒球(好中球)の順で弱くなります。赤血球及び血小板は CD45 陰性です。
7. サイトスタット tetraCHROME シリーズでは、リンパ球のゲーティングに CD45 蛍光を併用しているため、リンパ球領域への未溶血赤血球の混入の可能性は非常に小さいと考えることができます。
8. 病態と特定の白血球ポピュレーションの変動とは必ずしも一致しないため、測定結果は臨床及び他の診断データと共に使用してください。
9. 測定結果の解釈を行う場合には、測定条件及び供血者の年令、性別、喫

煙習慣等の影響も考慮してください。

臨床的意義

ヒト末梢血のリンパ球は、T細胞（胸腺由来）、B 細胞（骨髄細胞）、NK 細胞（ナチュラルキラー細胞、null 細胞）の 3 つの細胞集団で構成されています。これらの細胞型は、顕微鏡検査では形態学的に区別できませんが、細胞膜上の特有な抗原の違いによって同定が可能です。

T 細胞、B 細胞、及び NK 細胞は免疫機能の中心的役割を果たしています。種々の T 細胞サブタイプが特異的抗原を認識して、エフェクター機能を発揮したり、細胞性／体液性免疫応答を調節しています。抗原特異的な B 細胞は、T 細胞を介した、抗原やマクロファージによる活性化の過程で、抗原特異的な免疫グロブリン（Ig）を産生・分泌する形質細胞へと分化します。NK 細胞は、独立した細胞障害性エフェクター細胞集団として同定され、造血の調節、ウィルス感染の防御、悪性腫瘍細胞の破壊などに必須の役割を果たしています。NK 細胞による細胞障害は、クラスⅠまたはⅡの腫瘍組織適合性複合体（MHC）抗原による拘束性を示すことなく起こります。NK 細胞は、骨髄中の前駆細胞に由来し、胸腺での成熟過程を必要とせずに骨髄内で分化することが示されています。

歴史的に、T 細胞と B 細胞は、それぞれヒツジ赤血球に対するレセプタ（E-ロゼット・レセプタ）と細胞表面免疫グロブリン（SmIg）により同定されていました。E-ロゼット法は、T 細胞に特異的であるものの、光学顕微鏡下でヒツジ赤血球とT 細胞の結合を観察し細胞数を数えなくてはなりません。SmIg の測定によるB 細胞の同定・定量も、他の細胞集団にIg-Fc 部分に対するレセプタに結合したIgによる SmIg の偽陽性が見られるため、精度に限界があります。NK 細胞の同定・定量には、従来よりクロム遊離法などの標準的な細胞障害性試験が用いられてきました。

近年、T、B、NK 細胞とそれらの亜分画を同定するためのモノクローナル抗体が開発されました。従来の比較的特異性の低いポリクローナル抗体（異種抗血清）に比べ、モノクローナル抗体は各々が異なる表面抗原を特異的に認識します。これにより、正確で確実なリンパ球測定だけでなく、他の細胞マーカー（TdT、HLA-DR 関連抗原、SmIg）と組み合わせて、T 細胞及び B 細胞分化段階の同定も行うことができます。

細胞表面抗原は、細胞の成熟（分化）段階や機能を反映する形で、T 細胞、B 細胞上に発現あるいは消失しています。ある抗原が発現した細胞には、他の表面抗原もその一部または全部が様々な期間発現しています。

T 細胞における“pan-T 細胞”抗原は、CD7（初期前胸腺細胞）；CD2；CD5（未熟胸腺細胞）；細胞質内 CD3（未熟及び中間型胸腺細胞）；細胞表面 CD3（成熟胸腺細胞）というような順序で発現していきます。これに伴って、CD4 と CD8 の同時発現（中間型胸腺細胞）とその後の各々単独の発現（成熟胸腺細胞）が見られます。これらの表面抗原は、末梢血やリンパ組織中の休止期及び活性化 T 細胞に至るまで、分化段階を通してその発現が継続します。

B 細胞における“pan-B 細胞”抗原は、CD19（B 前駆細胞／pre-pre-B 細胞）；CD20（pre-B 細胞）という順序で発現していきます。CD19、CD20 ともに、一度発現した後、休止期及び活性化 B 細胞やリンパ組織 B 細胞を含む成熟 B 細胞の分化段階まで発現が継続します。どちらも B 細胞分化の最終段階である形質細胞で消失します。

CD21 や CD22 は、末梢血またはリンパ組織の成熟 B 細胞の活性化に伴い消失する、「限定 B 細胞表面抗原」です。細胞表面の CD22 発現より早い段階（pre-pre-B 細胞）で、細胞質内に CD22 が検出されます。

“Pan-T 細胞”抗原、“Pan-B 細胞”抗原及び“Pan-NK 細胞”抗原に特異的なモノクローナル抗体は、それぞれ成熟 T 細胞、B 細胞及び NK 細胞の同定・定量に用いることができます。また、リンパ球の成熟（分化）段階や機能的分類は、特定の細胞表面抗原に特異的なモノクローナル抗体を用いて確定することができます。

サイトスタット tetraCHROME™ シリーズは、白血球共通抗原である CD45 と、“Pan-T 細胞”及び“インデューサ T 細胞”、“サプレッサ／細胞障害性 T 細胞”の表面抗原である CD3、CD4、CD8、“Pan-B 細胞”抗原及び“Pan-NK 細胞”抗原である CD19、CD56 のそれぞれに特異的に結合するモノクローナル抗体によって、末梢血中の T 細胞及びそのサブセット、B細胞及び NK 細胞を測定します。本品は、同じ全血サンプル中の異なるリンパ球集団を一度に分析することができます。

tetraONE™ システムを搭載した EPICS XL™ System-Ⅱフローサイトメーター、tetraCXP システムを搭載した FC500 フローサイトメーター、または Navios tetra システムを搭載した Navios フローサイトメーターでは、サイトスタット tetraCHROME シリーズでリンパ球サブセットの 4 カラー自動測定を行うことができます。これらのシステムでは、tetraCHROME シリーズモノクローナル抗体試薬と機器セットアップ用の精度管理用試薬、オプションとして絶対数測定用試薬を用いて、末梢血全血中の T 細胞（CD3＋）、B 細胞（CD19＋）、NK 細胞（CD3－/CD56＋）、CD4＋リンパ球、CD4＋T 細胞、CD8＋リンパ球、CD8＋T 細胞の測定を自動で行います。
さらに、サイトスタット tetraCHROME CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD /CD3-PC5 においては T4/T8 比、サイトスタット tetraCHROME CD45-FITC /CD56-RD1/CD19-ECD/CD3PC5 においては、全リンパ球（T+B+NK）陽性率を自動計算します。

T 細胞、B 細胞、NK 細胞及び CD4 陽性リンパ球、CD9 陽性リンパ球の割合（陽性率）と陽性細胞数（絶対数）は、既知あるいは未知の疾病下にある患者の免疫機能の評価や、臓器移植後のリンパ球レベルのモニタに有用です。

すなわち、T 細胞、B 細胞、及び CD4 陽性リンパ球、CD8 陽性リンパ球数の異常は、白血球数の減少を来している未知の疾患の患者の診断及び予後判定に役立ちます。T 細胞、B 細胞及び CD4 陽性リンパ球、CD8 陽性リンパ球の変動が腎、心、肝、肺などの臓器移植に伴って認められ、これらの細胞集団のモニタリングが有用であることが示唆されます。

NK 細胞は、ある種の癌細胞やウィルス感染細胞などの標的に対して、MHC 非拘束性の細胞障害を媒介できる細胞集団として、機能的に定義されています。

CD4 陽性リンパ球数の異常を確認することは、免疫不全症の診断や予後判定にも有用です。例えば、後天性免疫不全症候群（AIDS）の病原体であるヒト免疫不全ウィルス（HIV）に感染すると、HIV のレセプタ（CD4 抗原分子そのもの）を発現している CD4 陽性リンパ球が選択的に死滅することにより、免疫抑制が起こります。臨床上、免疫学上の異常の進行は、一般に CD4 陽性リンパ球数の減少と相関しています。

疾病に関連した CD4 もしくは CD8 陽性リンパ球数の変化は、CD4/CD8（T4/T8）比、すなわちインデューサT細胞とサプレッサ／細胞障害性 T 細胞の比の変化をもたらします。したがって、T4/T8 比は診断及び免疫機能の予後指標として有用です。

T4/T8 比及び CD4 陽性リンパ球数は、ARC (AIDS-related complex)及び AIDS の判定に最も広く用いられている検査項目です。進行した AIDS 患者では、CD4 陽性リンパ球数が検出限界未満になるとともに、T4/T8 比が 0（ゼロ）に近づきます。このような症例では、CD8 陽性リンパ球数は正常、増加、あるいは減少と様々です。

T4/T8 比に有意な変動を来さない程度の CD4 陽性リンパ球の陽性率減少と CD8 陽性リンパ球の陽性率増加が、腎移植後の腎機能が安定している時期の患者で観察されています。また、自家骨髄移植後の造血系再構築の過程で、T4/T8 比と CD4 陽性リンパ球の陽性率低下が認められています。

サイトスタット tetraCHROME シリーズ CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD / CD3-PC5 は、ヒトの主要リンパ球サブセットである T 細胞、B 細胞、NK 細胞の算定に用います。以下の式から「全リンパ球陽性率」を求めることで、検体ごとに精度管理チェックができます。

全リンパ球陽性率（%）＝
CD3（T）陽性率（%）＋CD19（B）陽性率（%）＋CD3 陰性/CD56（NK）陽性率（%）

サイトスタット tetraCHROME シリーズの各構成製品は、一連のパネルとして測定して CD3 陽性リンパ球測定値のパネル内再現性を見ることで、検体ごとに精度管理チェックができます。

性能

フローサイトメーターを用いて各試験を行うとき、下記の規格値に適合します。

【正確性】

管理用検体を測定するとき、CD56-RD1、CD19-ECD、CD3-PC5 の陽性率は、それぞれ既知陽性率の±10%以内です。
健常者の末梢血を測定したとき、CD45-FITC 蛍光と側方散乱光のヒストグラム上で、リンパ球、単球、顆粒球の各集団を明瞭に区別できます。

【感度】

上記正確性試験を実施した場合、2 倍希釈まで規格を満足します。

【同時再現性】

同一検体を 3 回以上測定するとき、陽性率の変動係数（%CV）は以下のとおりです。このとき、CD45-FITC 蛍光と側方散乱光にヒストグラムでは、いずれの測定ともリンパ球、単球、顆粒球の各集団を明瞭に区別できます。
CD56-RD1 ：7%以下、 CD19-ECD ：7%以下、 CD3-PC5 ：5%以下

【既承認品との相関性】

末梢血全血を検体として、従来法でのサイトスタット tetraCHROME シリーズと既承認品との相関性について調べた結果は以下のとおり良好でした。

CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5 (n = 52)

$CD3^+$:	y = 0.941 x +4.06	r = 0.937
$CD19^+$:	y = 0.911 x +1.07	r = 0.949
$CD56^+$:	y = 0.963 x +0.56	r = 0.963

使用上または取扱上の注意

1. 本品はアジ化ナトリウムを 0.1%含んでいます。アジ化ナトリウムは酸性下で有毒なアジ化水素酸を産生するため、取り扱いには十分注意してください。また、アジ化物が金属製の排水管内に蓄積することによる爆発の危険性を避けるため、アジ化物を廃棄する際は、施設で定められた方法に従うか、多量の流水で希釈してください。
2. 検体及び検体に触れた器具類は感染の危険性があるものとして取り扱い、適当な表示、処理をした上で廃棄してください。
3. ピペットを口で吸引しないでください。皮膚や粘膜への検体の接触を避けてください。
4. 保管及びインキュベーション中に試薬を強い光にさらさないでください。
5. 試薬が微生物に汚染されないよう注意してください。
6. 有効期限を過ぎた試薬を使用しないでください。

貯蔵方法・有効期間

貯法： 冷暗所 2～8℃　　有効期間： 11 ヶ月
（使用期限は、ボトルに表示があります）

包装単位

サイトスタット tetraCHROME シリーズ
CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5
製品番号 6607073 容量 50 テスト （0.5mL）

主要文献

1. Schlossman SF, et al., eds: 1995. Leukocyte a Typing V. Oxford University Press. pp.262,263,268,270,507-511,1398-1400.
2. Beverley PCL and Callard RE: 1981. Distinctive functional characteristics of human T lymphocytes defined by E rosseting or a monoclonal anti-T cells antibody. Eur J Immunol 11:329-334.
3. Bernard A, et al., eds: 1984. Leukocyte Typing. New York: Springer-Verlag. pp.28, 41-42,44,196.
4. Reinherz EL, et al.: 1982. Heterogeneity of human T4+ inducer T cells defined by a monoclonal antibody that delineates two functional subpopulations. J Immunol 128: 463-468.
5. Meuer SC, et al.: 1982. Clonal analysis of human cytotoxic T lymphocytes: T4+ and T8+ effector T cells recognize products of different major histocompatibility regions. Proc Natl Aced Sci USA 79: 4395-4399.
6. Reinherz EL, et al.: 1986. Leukocyte Typing II. New York: Springer-Verlag. Vol2, p.8, 15-25, 37.
7. Reinherz EL, et al.: 1979. A monoclonal antibody with selective reactivity with functionally mature human thymocytes and all peripheral human T cells. J Immunol 123: 1312-1317.
8. Knapp W, et al., ed: 1989. Leukocyte a Typing IV. Oxford University Press. pp.22,36-38,536,541,699-702.
9. Pesando JM, et al.: 1987. Altered expression of surface antigens with appearance of HLA class II molecules on a human malignant B-cell line. Human Immunology 19: 235-243.
10. Griffin JD, et al.: 1983. Characterization of an antigen expressed by human natural killer cells, J Immunol 130: 2947-2951.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Procedures for the collection of diagnostic blood specimen by venipuncture; Approved Standard. 1991. NCCLS Document H3-A3.
12. Gebel HM, et al.: 1989. Discordant expression of CD3 and T-cell receptor antigens on lymphocytes from patients treated with OKT3. Transplantation Proceedings 1: 1745-1746.
13. Schroeder TI and Chatenoud L: Immunological monitoring during treatment with OKT3. Presented under the auspices of the American Society of Transplant Surgeons. Citation to be filled in when available from authors. Koepke JA and Landay AL: 1989. Precision and accuracy of absolute lymphocyte counts. Clin Immunol Immunolpathol 52: 19-27.
14. Koepke JA and Landay AL: 1989. Precision and accuracy of absolute lymphocyte counts. Clin Immunol Immunopathol 52: 19-27.

問い合わせ先

ベックマン・コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目５番７号 TOC 有明ウエストタワー
TEL：0120-566-730 FAX：03-5530-2460

製造販売業者の名称及び住所

ベックマン・コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目５番７号 TOC 有明ウエストタワー